

Dott. Carlo Maglio

Istituto di Anatomia Comparata della R. Università di Milano

---

RIGENERAZIONE DEL MIDOLLO SPINALE  
NELLA CECA (*Anguilla vulgaris*).

NOTA PRELIMINARE

---

La letteratura relativa alla rigenerazione del midollo spinale dei pesci è poverissima. Il potere rigenerativo di questo organo venne constatato per la prima volta quasi a un tempo nei ciclostomi e nei teleostei: nei primi da Barfurth (1900) in base all'esame di una coda trifida presentata in natura da una larva di *Petromyzon planeri*, nei secondi da Nusbaum e Sidorjak (1900) che in via sperimentale studiarono i fenomeni della rigenerazione negli avanotti appena sgusciati di *Salmo fario*. È ovvio che Barfurth non potesse seguire l'andamento del supposto processo rigenerativo, ma anche Nusbaum e Sidorjak, per circostanze in parte fortuite (un'infezione da muffe sopravvenuta nel corso delle esperienze), non poterono accertare che pochissimi fatti in merito alla rigenerazione del midollo.

Secondo questi autori essa avrebbe inizio molto tardivo, nella decima settimana consecutiva alla lesione, colla comparsa di scarse mitosi nella regione estrema distale del midollo mutilato, e questa prima manifestazione dell'attività rigeneratrice sarebbe preceduta dalla chiusura completa del tubo neurale (nella terza e quarta settimana) e da diversi fenomeni regressivi, tra i quali essi annoverano anche la nota dilatazione terminale ad ampolla del canale centrale.

Un'altro reperto naturale di lampreda, (*P. fluviatilis*), fornì occasione a Studnička (1912) di un accurato esame istologico dell'apice codale, che un morso aveva amputato per una lunghezza di una decina di mm. Mentre l'autore poté illustrare

in diversi tessuti e particolarmente nella cartilagine e nella corda dorsale un interessante processo di rigenerazione tuttora in pieno sviluppo, nel midollo egli osservò unicamente fatti degenerativi, distruzione della sostanza nervosa e anche della trama di neuroglia in prossimità della ferita e dilatazione terminale del canale centrale.

Il problema del potere rigenerativo della parte posteriore del corpo della lampreda venne ripreso in esame con metodo sperimentale pochi anni or sono da E. Berzolari (1918) nella larva del *P. planeri* Bl. L'Autrice, che potè seguire sulle sezioni l'andamento del processo, mise in luce accanto ai noti fenomeni regressivi, tra i quali a torto, secondo essa, venne posta la formazione dell'ampolla del canale centrale, un processo di rigenerazione del midollo che si manifesterebbe alla distanza di un mese dalla ferita con un'attiva moltiplicazione di cellule specialmente ependimali. Per quanto riguarda le fibre, essa ritiene che si arrivi alla formazione di nuove fibre da parte di neuroblasti nuovamente differenziati.

Anche nei teleostei la rigenerazione del midollo fu recentemente studiata da Pearcy e Koppanyi (1924). Per quanto potei desumere da una recensione pubblicata nei *Berichte üb. die ges. Physiol. u. experim. Pharmak.* XXXIV. h. 1/2 (1926), non essendomi riuscito finora di prendere visione del lavoro originale, questi autori avrebbero osservato che in *Carassius auratus* il taglio trasversale del midollo è seguito nello spazio di alcune settimane dal reintegrarsi della continuità istologica ad opera dei cilindrassi rigenerati e dal ripristino della funzione. Essi non ci forniscono particolare alcuno sul processo rigenerativo. In una breve nota su esperienze di rigenerazione nei teleostei, letta alla Soc. Ital. di Sc. Nat. (1926), io riassumevo i principali fatti da me constatati a proposito della rigenerazione del midollo spinale nella ceca, alcuni dei quali, non osservati fino allora nei pesci, trovano riscontro in altre classi di vertebrati, e, mentre ammetteva da un lato che le fibre del midollo rigenerato originassero dai monconi centrali dei cilindrassi recisi, mi riservavo d'altra parte di meglio indagare la probabile natura nervosa di alcune fra le cellule neoformate. Non era però possibile farsi un'idea esatta dell'accrescimento delle fibre nè affermare con piena sicurezza che anche nei pesci, a somiglianza di quanto avviene negli anfibi, vi ha reale

rigenerazione di cellule nervose senza il sussidio di quei particolari metodi d'impregnazione metallica, specie all'argento ridotto (metodo così detto fotografico di Cajal), che permisero dapprima a Perroncito e a Cajal di svelare l'intimo meccanismo della rigenerazione dei nervi e vennero poi largamente impiegati nello studio della rigenerazione dei centri nervosi. Anche a riguardo del midollo spinale, il processo rigenerativo venne oramai studiato mediante questa particolare tecnica in tutte le classi dei vertebrati ad eccezione di quella dei pesci. Mi propongo appunto in questa breve nota preliminare di riferire i risultati da me ottenuti coll'ausilio della medesima nella ceca.

#### Tecnica seguita.

Gli animali vennero operati come nelle precedenti esperienze (Maglio, 1926, pag. 96), mutilati cioè dell'apice codale per una lunghezza pari a 1/10 circa della lunghezza del corpo. Alla distanza poi di 4, 7, 15 ore e successivamente di 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 12, 24 giorni, 1 e 2 mesi, subivano una nuova amputazione, assai meno profonda, tale cioè da comprendere insieme al rigenerato un tratto antistante di 2-3 mm. di coda. Il pezzo così reciso veniva fissato in alcool ammoniacale e poi immerso in soluzione di nitrato d'argento titolata o all'1 o al 2‰, e mantenuto durante il bagno in termostato a 30° C. (1); dopo un periodo variabile da 1 a 5 giorni trattato col riduttore e incluso in paraffina. Quasi sempre le sezioni furono sottoposte a un trattamento di viraggio all'oro, col duplice vantaggio di una differenziazione più precisa degli elementi nervosi e di una maggior stabilità del preparato. La impregnazione riescì in generale buona, quantunque il midollo fosse incluso nello speco osseo vertebrale, il quale per altro rese difficile e talvolta penosa la confezione delle sezioni, data la quasi impossibilità di conciliare con la tecnica impiegata i noti procedimenti di decalcificazione dell'osso e la convenienza inoltre di una inclusione rapida e a temperatura possibilmente bassa (scelsi paraffina a t. di fusione da 50° a 52°).

---

(1) Ottenni l'impregnazione anche alla temperatura ambiente ma con esito più incostante.

### Rigenerazione della sostanza bianca.

Se la rigenerazione delle fibre dei cordoni midollari non procede, almeno nella ceca, con quella sorprendente velocità che venne constatata la prima volta da Perroncito nelle sue classiche esperienze sulla rigenerazione dei nervi (1908), dovè per talune fibre l'inizio del processo rigenerativo si può far risalire ad appena 3 ore dopo il taglio, essa è però incomparabilmente più precoce di quanto non lasciasse supporre l'esame dei preparati allestiti coi metodi generali della tecnica istologica. In questi è possibile verificarla con qualche sicurezza, per quanto in modo indiretto, solamente a partire dal 15° giorno o poco prima, quasi contemporaneamente alla comparsa nel



FIG. 1. — Manipolo di fibre nervose dei cordoni ventrali con bottone rigenerativo all'estremità del moncone centrale (15 ore dopo il taglio). Obb. semiapocr. 1"/15; oc. comp. 4.

midollo delle prime figure cariocinetiche, basandosi sul fatto del riaffiorare delle fibre al margine della ferita e poi del loro sporgere dal piano del taglio. Nei preparati alla Cajal, già alla distanza di 15 ore dalla lesione si possono osservare nettamente modellati, all'estremità dei monconi centrali dei cilindrassi, i caratteristici bottoni rigenerativi (bottoni di accrescimento) terminali (fig. 1). Sono bottoni massicci, a contorno regolare, per lo più ovale o piriforme, fortemente impregnati, che per questi loro caratteri e più per il loro comportamento nelle fasi ulteriori del processo rigenerativo si differenziano da quelle espansioni generalmente più grosse, a contorno irregolare, più o meno spiccatamente vacuolizzate e manifestanti una affinità

assai più debole per l'argento ridotto, che hanno il significato di prodotti della degenerazione traumatica della fibra nervosa (1). Tali bottoni di accrescimento compaiono anche nei giorni successivi e talvolta, per quanto isolati, anche molto tardivamente (ne osservai nel 24° giorno di rigenerazione). A partire dal secondo o terzo giorno, un esame accurato dei preparati con obiettivi ad immersione omogenea lascia scorgere un sottile ramuscolo rigenerato che origina e si svolge dal bottone (fig. 2) e costituisce il prolungamento del moncone centrale di *axon*. Io non ebbi occasione di osservare nella ceca quelle particolari formazioni rigenerative, come anelli nervosi od eliche, che sembrano frequenti nei mammiferi. Forse nei pesci compaiono raramente e in modo fugace o anche il processo di rigenerazione della fibra nervosa si compie con modalità più semplici in confronto di quanto si avvera nei vertebrati superiori. Co-



FIG. 2. — Grossa fibra di un cordone dorsale a due giorni dal taglio.  
Obb. semiapocr. 1<sup>h</sup>/15; oe. comp. 4.

munque anche negli anfi bi il De Nò (1921), che studiò nei girini di rana col Cajal la rigenerazione del midollo spinale, le dice rarissime (2) e si limita in fondo a descrivere e a raffigurare dei bottoni rigenerativi terminali. Scarse volte mi fu dato constatare una ramificazione delle fibre neoformate, per quanto l'aspetto di certi fasci degli stadi più avanzati, costituiti per intero da un gran numero di fittissime ed esili fibre, lasci ritenere probabile che un tale processo si compia in misura abbastanza larga. Le fibre che compongono la sostanza bianca del tratto di midollo rigenerato non provengono tutte

(1) CAJAL (1914) descrivendo la degenerazione traumatica nella sostanza bianca del midollo spinale dei mammiferi indica queste formazioni col nome di bottoni di retrazione (retrazione e accumulo protoplasmatici).

(2) Haremos notar solamente que, tratandose de embriones, el proceso es mucho más rapido y que solo con estremada rareza puede observarse el arrollamiento del cabo del *axon*, y que los anillos existen solamente durante escasas horas, por convertirse en botones macizos al comenzar el ercemento. DE NÒ, loc. cit. pag. 149-150.

in modo esclusivo dai monconi centrali di fibre preesistenti poichè alcune hanno origine, come ora dirò, da cellule nervose neoformate.

### Rigenerazione delle cellule nervose.

Come già accennai, la neoformazione di neuroblasti venne ammessa da Berzolari nella rigenerazione del midollo dei *Ciclostomi* (*Ammocoetes branchialis*), e nella ceca, frammiste alle fibre del midollo rigenerato, io aveva notato nei preparati eseguiti coi metodi generali di tecnica alcune cellule che per l'aspetto, specialmente per il loro contorno più o meno poligonale e per i caratteri del nucleo, di dimensioni ragguardevoli e di debole colorabilità, mostravano una spiccata rassomiglianza con quelle della sostanza grigia del midollo normale.



FIG. 3. — Due cellule nervose neoformate in un rigenerato di 24 giorni. (Obb. semiapocrom. 1"/15, oc. comp. 4).

Ora ogni dubbio circa la natura nervosa di siffatti elementi cade quando si impieghi il metodo all'argento ridotto. Il primo apparire nel rigenerato di cellule nervose neoformate è di poco posteriore a quello delle prime figure cariocinetiche e si può a un dipresso far cadere nella quarta settimana di rigenerazione. In seguito, a partire da uno o due mesi dalla ferita, le cellule nervose compaiono numerosissime, anche nella porzione di midollo sporgente dal piano del taglio. Non di rado riesce di poter seguire per buon tratto il loro prolungamento cilindrico, che talvolta si vede diretto longitudinalmente verso l'estremo distale del rigenerato. È appunto il caso delle due grosse cellule rappresentate dalla fig. 3, che sono fra le più precoci apparse (preparato di 24 giorni); esse spiccano nella zona contigua al margine della ferita, già sede in precedenza di processi distruttivi e dove ancora permane qualche raro tardivo bottone di accrescimento di fibre nervose. Colpisce il

loro lungo *axon* che in una delle due finisce notevolmente espanso (terminazione a contatto del corpo d'una cellula nervosa non impregnata?). Per breve tratto a partire dalla sua origine quest' *axon* mostra una evidente struttura fibrillare; le neurofibrille anzi si possono accompagnare fin dentro al corpo della cellula, in seno al citoplasma, dove pare si perdano in una specie di reticolo. In qualche altra cellula pure neoformata, vicina alle due ricordate, appare stabilito il contatto colle terminazioni di fibre collaterali del midollo.

Sulla origine delle nuove cellule nervose poco posso dire. Dato che nel midollo rigenerante le figure cariocinetiche compaiono quasi in totalità nelle cellule ependimali, è presumibile che da queste prendano nascita i nuovi neuroblasti. Qualche rara mitosi si può tuttavia presentare anche in parti più periferiche, in seno alla sostanza bianca, per effetto, credo, di una migrazione di elementi provenienti dall'ependima. Il fatto ha riscontro negli anfi (Hooker, 1925) <sup>(1)</sup> e costituisce una nuova analogia nel processo rigenerativo del midollo fra queste due classi di vertebrati che hanno in comune la facoltà ben accertata di rigenerare la cellula nervosa.

#### ELENCO DELLE PUBBLICAZIONI CITATE

---

1900. — D. BARFURTH. Eine Larve von *Petromyzon Planeri* mit drei Schwanzspitzen. Arch. Entw. IX.
1900. — J. NUSBAUM u. S. SIDORIAK. Beiträge z. Kennt. der Regenerationsvorgänge nach künstl. Verletzungen b. älteren Bachforellennembryonen (*Salmo fario* L.), Arch. Entw. X.
1905. — S. RAMON CAJAL. C. R. Soc. Biol. 17-XI-1905.
1908. — A. PERRONCITO. La rigenerazione dei nervi. Mem. R. Istituto Lomb. di Sc. e Lett. (Cl. Scienze Mat. e Nat.), XX. fasc. 10.
1912. — F. K. STUDNÍČKA. Ueber Regenerationserscheinungen im caudalem Ende des Körpers von *Petromyzon fluviatilis*. Arch. Entw. XXXIV.
1914. — S. RAMON CAJAL. Estudios sobre la degeneración y regeneración de los centros nerviosos. Tomo 11. Madrid 1914.

---

(1) HOOKER considera tali cellule come cellule indifferenti nel senso di Schaper.

1918. — E. BERZOLARI. Sul potere rigenerativo della parte posteriore dell'*Ammocoetes branchialis*. Bull. Istit. Zool. d. R. Università di Palermo. Vol. I.
1921. — R. LORENTE DE NÓ. La regeneración de la medula espinal en las larvas de batracio. Trabajos del Laborat. de Investigac. Biolog. d. la Universidad de Madrid. T. XIX.
1924. — J. F. PEARCY a. T. KOPPANYI. A further note on regeneration of the cut spinal cord in fish. Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. XXII.
1925. — DAVENPORT HOOKER. Studies on regeneration in the spinal cord. III. Reestablishment of anatomical and phisiological continuity after transection in frog tadpoles. The Journal of Compar. Neurology. XXXVIII.
1926. — C. MAGLIO. Esperienze di rigenerazione nei teleostei. Atti Soc. Ital. Sc. Nat. LXV.
-